

Histological, pathological and therapeutical aspects of osteoarthritis

Citation for published version (APA):

Bulstra, S. K. (1992). *Histological, pathological and therapeutical aspects of osteoarthritis*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht.
<https://doi.org/10.26481/dis.19921023sb>

Document status and date:

Published: 01/01/1992

DOI:

[10.26481/dis.19921023sb](https://doi.org/10.26481/dis.19921023sb)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

Osteoarthritis (OA) is a disorder of joints characterized by erosion of the cartilage, proliferation of fibrous tissue and the formation of osteo-cartilaginous tissue at the margins of the joint. In contrast to Rheumatoid Arthritis (RA) inflammation plays not a primary role in the etiology of OA. In the last decade the number of patients needing treatment for OA has increased considerably. Although interest in the pathology as well as the therapy of OA has grown, relatively little is known about the pathogenesis of OA in humans. In this thesis different approaches to the study of the pathology and therapy of OA are used.

In the first chapter of the thesis, a survey of epidemiological, etiological and pathophysiological aspects relevant to the study of OA is given. OA is found to be the cause of large numbers of patients who need orthopaedic care. Although the macroscopic aspect of OA is well known, it is difficult to predict if chondromalacia at a young age will proceed to more extensive OA resulting in further deterioration of cartilage.

Biochemical changes, which occur during the process of OA, have mostly been studied in animal models. Some of the changes seen in animal OA, however, do not apply to the changes found in humans. There is clear evidence that the increase in water content, breakage of the collagen fibres, and the changing metabolic state of the chondrocytes result in further deterioration of the cartilage in OA.

For the etiology of OA, different hypotheses have been suggested. In secondary OA (e.g. post-traumatic, RA, congenital malformations) a process resulting in abnormal mechanical loading of the cartilage precedes the actual OA. In the majority of patients, however, no clear etiological onset for OA can be found (primary OA). Essentially in the concepts of the etiology of primary OA, either the subchondral bone or the cartilage itself are thought to be the primary location for OA. From there on exogenous as well as endogenous factors are involved in the further breaking down of cartilage.

In the therapy for patients with OA, non-operative treatment plays an impor-

tant role. The function of analgesics, non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) and so-called "chondroprotective drugs" is discussed in this thesis. Prudence is needed regarding the use of these drugs, because in some of them, not only the effectiveness in treating OA is questionable, but adverse effects also have been found. Several surgical procedures are discussed in the last part of chapter one. Recent developments in arthroscopy have enlarged the possibilities of surgical procedures for patients with OA. The possibility to restore localized cartilage defects, especially in younger patients, has been the subject of recent studies.

Chapter two introduces and discusses the experimental work. In this thesis attention is paid to three different aspects of the research on OA. Study one and two concern the histological aspects of OA. Study three and four deal with aspects of the culture of human chondrocytes and perichondrium and, in study five and six, some therapeutical aspects of the treatment of patients with OA are studied.

The first study deals with the reliability of the Mankin score for OA. Previous investigations confirmed that the criteria normally used for the histopathological classification of the severity of OA could not easily be interpreted by different observers. In our OA cartilage sections there seemed to be differences in structure and stainability with advancing disease compared to the experiments described by Mankin et al. Hence, we developed more extensive criteria for the evaluation of the severity of OA. It is demonstrated that these new criteria made possible a faster and slightly more adequate qualification of OA sections.

In the second study we evaluated the characteristics of glycolmethacrylate (GMA)-embedded cartilage stained with safranin-O and thionin. Others have shown that the safranin-O fast green staining method is a sensitive procedure, for assessment of the quality of the cartilage in paraffin embedded cartilage. Decalcification, dehydration and paraffin-embedding produces changes in matrix and chondrocyte structure which reduce the sensitivity of the histopathological score of cartilage. Our study demonstrated that GMA embedding produced sections with a better conservation of the structure of cartilage and chondrocytes than paraffin-embedded sections. Thionin staining enabled us to get a thorough estimate of the glycosaminoglycan (GAG) content of these GMA-embedded sections.

In the third study a method for culturing isolated human chondrocytes in high density is described. With this culture method the phenotypic characteristics of healthy and osteo-arthritic (OA) chondrocytes could be maintained. A positive correlation between the severity of OA and the proliferative and metabolic capacity of the

isolated chondrocytes in culture appeared. By this method a stable short term culture system for the study of adult human chondrocytes was created. The data suggested that the changed metabolism of OA chondrocytes, compared to healthy chondrocytes, might be an intrinsic property of the cell itself.

In the fourth study the potential of adult human perichondrium to form hyalin cartilage is discussed. Since (immature) animal perichondrium had already been proved to be able to form hyalin cartilage in vitro and in vivo, it appeared useful to investigate if adult human perichondrium could do so. Clinically, the perichondrium could serve as an autologous biological graft capable of restoring localized cartilage defects. Therefore, we investigated the capacity of adult human perichondrium to form hyalin cartilage in vitro. Our data indicated that in vitro culture of human perichondrium results in the formation of hyalin cartilage after a short culture period. Moreover, the potential of perichondrium to form hyalin cartilage in vitro seemed to increase in a longer culture period.

In the fifth study, we evaluated the effect of gentamicin on the metabolism of in vitro cultured rat patellar cartilage. Bacterial joint infections have been shown to be the cause of fast destruction of the joint cartilage. Patients with reduced capacity to eliminate these bacteria, and patients with already destructed cartilage due to e.g. OA run a greater risk of developing these infections. Due to late diagnosis and inadequate intra-articular antibiotic concentration, fast destruction of the joint cartilage takes place. Many of the administered antibiotics have serious toxic side effects. The intra-articular administration of antibiotics might overcome some of these problems, but we must be certain that the antibiotics do not impede cartilage metabolism. In this study, therefore, we evaluated the effect of high doses of gentamicin on the metabolism of cartilage in vitro. Our data indicated that even high doses of gentamicin did not impede cartilage metabolism. We concluded that frequent intra-articular administration of gentamicin might offer a good supplement to the normal therapy for joint infection.

In the last study we evaluated the effect of piroxicam on the metabolism of healthy as well as OA human chondrocytes in vitro. Non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID), such as piroxicam, are frequently used for the treatment of patients with pain in the OA joint(s). It has been suggested that several NSAID may have serious adverse effects on the general health and the cartilage metabolism of these patients. In fact NSAID are meant to be used in patients with synovitis as in R.A. In contrast to RA, synovitis in OA does not seem the primary cause of the disease and

clear synovitis is only present after (micro)trauma of the joint. We therefore investigated the effect of piroxicam on the metabolism of human chondrocytes in vitro. Our data indicated that piroxicam inhibits the metabolism of healthy and OA chondrocytes in vitro. We therefore suggest that the treatment with NSAID of patients with OA and clear synovitis should be restricted to the period of effusion.

Samenvatting

Osteoarthrose (OA) is een ziekte waarbij het gewrichtskraakbeen erodeert, proliferatie van fibreus weefsel vanuit het onderliggende bot optreedt en benige uitstulpingen bedekt met kraakbeen (osteofyten) aan de randen van het gewricht worden gevormd. In tegenstelling tot Rheumatoïde Arthritis (RA) staat bij OA ontsteking als etiologische factor niet op de voorgrond. In het laatste decennium is het aantal patiënten dat behandeling nodig heeft wegens OA van één of meer gewrichten aanzienlijk gestegen. Alhoewel de interesse voor de pathologie en de behandeling van OA is toegenomen is er relatief weinig bekend over de pathogenese van OA bij de mens. In dit proefschrift worden verschillende benaderingen voor de bestudering van de pathogenese, histologie en de therapie van OA gepresenteerd.

In het eerste hoofdstuk van dit proefschrift wordt een overzicht gegeven van epidemiologische, etiologische en pathofysiologische aspecten die relevant zijn voor de bestudering van OA. Het blijkt dat een groot aantal patiënten orthopaedische behandeling nodig heeft voor OA. Alhoewel het macroscopische aspect van OA bekend is, blijkt het moeilijk voorspelbaar te zijn of macroscopisch afwijkend kraakbeen zoals we dat regelmatig op jonge leeftijd aantreffen (chondromalacia), zal gaan uitmonden in OA met uitgebreide destructie van het kraakbeen. Biochemische veranderingen die zich voordoen in OA kraakbeen zijn vooral bestudeerd in dier modellen. Het is echter gebleken dat sommige biochemische veranderingen, die we in het diermodel zien, niet gevonden worden in OA kraakbeen van de mens. Het is wel duidelijk dat de toename van het water gehalte, het breken van de collagene vezels en veranderingen in het metabolisme van de kraakbeen cel uiteindelijk resulteren in OA.

Etiologisch kunnen we bij OA twee groepen onderscheiden; bij secundaire OA (bv. post-traumatisch, RA, congenitale misvormingen) resulteert abnormale mechanische belasting van het kraakbeen in OA. Bij de meerderheid van de patiënten met OA kan geen duidelijke oorzaak voor het ontstaan van OA worden vastgesteld (primaire OA). De meest waarschijnlijke hypothesen voor het ontstaan van primaire OA, gaan uit van een afwijking in het subchondrale bot of in het kraakbeen

zelf als oorzaak voor het ontstaan van OA. Daarna spelen zowel factoren van buiten het kraakbeen als uit het kraakbeen zelf een rol bij de verdere afbraak.

Bij de behandeling van patiënten met OA speelt de conservatieve behandeling een belangrijke rol. De rol van pijnstillers, niet-steroïde ontstekingsremmende middelen (NSAID) en zogenaamde "kraakbeen beschermende" medicamenten wordt in dit proefschrift besproken. Omdat de effectiviteit van deze geneesmiddelen niet in alle gevallen is bewezen en er zelfs schadelijke effecten beschreven worden, dienen deze geneesmiddelen met de nodige reserve te worden gebruikt. De verschillende chirurgische technieken voor de behandeling van patiënten met OA worden in het laatste deel van hoofdstuk 1 besproken. Nieuwe ontwikkelingen in de arthroscopische chirurgie lijken de behandelingsmogelijkheden voor patiënten met OA te verruimen. De mogelijkheid om geïsoleerde kraakbeen defecten (bv. met perichondrium) te herstellen, vooral bij jonge patiënten, is het onderwerp van een aantal studies uit de recente literatuur.

In hoofdstuk 2 wordt het experimentele werk van dit proefschrift geïntroduceerd en behandeld. In dit proefschrift worden drie verschillende aspecten van het OA-onderzoek besproken. De eerste en de tweede studie betreffen het histologisch onderzoek van OA. In de derde en vierde studie worden verschillende aspecten van het kweken van perichondrium en kraakbeen behandeld. In studie vijf en zes worden een tweetal therapeutische aspecten van de behandeling van patiënten met OA belicht.

De eerste studie behandelt de betrouwbaarheid van de Mankin score voor OA. Uit eerdere onderzoeken was namelijk gebleken dat de criteria, die gebruikt worden voor het vaststellen van de graad van OA, niet goed door verschillende onderzoekers werden geïnterpreteerd. Onze kraakbeencoupees bleken verschillen te vertonen voor wat betreft de structuur van het kraakbeen en de kleurbaarheid van de matrix bij OA in vergelijking met de experimenten zoals deze door Mankin zijn beschreven. Daarom hebben we de criteria voor de beoordeling van de graad van OA veranderd en uitgebreid. In deze studie wordt aangetoond dat de nieuwe criteria een betrouwbaarder maat geven om de ernst van OA in onze coupees te bepalen.

In de tweede studie worden de eigenschappen van in glycolmethacrylate (GMA) ingebed kraakbeen gekleurd met safranine-O en thionine bestudeerd. Het is bekend dat safranine-O een betrouwbare kleurstof is om de kwaliteit van kraakbeen dat in paraffine is ingebed te beoordelen. Door decalcificatie, dehydratie en het inbedden in paraffine verandert echter de matrix en de kraakbeencel structuur,

waardoor de beoordeling van de ernst van OA wordt bemoeilijkt. In deze studie wordt aangetoond dat de structuur van het kraakbeen ingebed in GMA beter wordt behouden dan in paraffine ingebed kraakbeen. Met behulp van thionine kan in tegenstelling tot safranine-O een goede indruk worden verkregen van het gehalte aan glycosamino-glycanen (GAG) van deze in GMA ingebedde kraakbeen coupes.

In de derde studie wordt een methode beschreven voor het kweken van geïsoleerde kraakbeencellen in hoge dichtheid. Met deze methode van kweken kan het fenotype van gezonde en OA kraakbeencellen worden behouden. Er blijkt een positieve correlatie te bestaan tussen de ernst van de OA en de proliferatieve en metabole eigenschappen van de kraakbeencellen in kweek. Met deze methode is een stabiel kweekmodel voor geïsoleerde menselijke chondrocyten gecreëerd. De resultaten suggereren dat het veranderde metabolisme van de OA kraakbeencellen niet door factoren van buitenaf, maar vanuit de chondrocyten zelf wordt geïnitieerd.

In de vierde studie wordt de potentie van volwassen menselijk perichondrium om hyalien kraakbeen te vormen besproken. Door anderen is al bewezen dat (onvolwassen) dierlijk perichondrium zowel *in vitro* als *in vivo* in staat is om kraakbeen te vormen. Er is echter betwijfeld of volwassen menselijk kraakbeen deze mogelijkheid nog wel heeft. Daarom is een onderzoek gedaan naar de potentie zowel kwalitatief als kwantitatief van volwassen menselijk perichondrium om hyalien kraakbeen te vormen. Onze resultaten laten zien dat het rib perichondrium al na korte tijd kraakbeen vormt met specifiek hyaliene kenmerken. De hoeveelheid kraakbeen die wordt gevormd blijkt met het verlengen van de kweektijd in omvang toe te nemen.

In de vijfde studie is *in vitro* het effect van gentamicine op het rat patella kraakbeen bestudeerd. Bacteriële gewrichtsinfecties zijn er de oorzaak van dat zeer snelle kraakbeen afbraak optreedt. Patiënten met een verminderde weerstand en reeds beschadigd kraakbeen hebben een duidelijk verhoogd risico voor het ontwikkelen van dergelijke infecties. De diagnose van de infectie wordt vaak laat gesteld en dientengevolge treedt er dan uitgebreide kraakbeen destructie op. Vele van de gebruikelijke antibiotica bij gewrichtsinfecties hebben ernstige bijwerkingen. Het intra-articulair toedienen van antibiotica kan enkele van de eerder genoemde problemen voorkomen, maar we moeten dan wel zeker zijn dat deze antibiotica het kraakbeen metabolisme niet beïnvloeden. In deze studie is daarom het effect van gentamicine op het kraakbeen metabolisme bestudeerd. Uit onze gegevens blijkt dat gentamicine het kraakbeen metabolisme *in vitro* niet beïnvloed. We concluderen daarom dat het

frequent toedienen van gentamicine intra-articulair, een goed addendum kan zijn bij de behandeling van gewrichtsinfecties.

In de laatste studie is het effect van piroxicam op zowel gezond als OA menselijk kraakbeen *in vitro* bestudeerd. Niet steroïde ontstekingsremmende geneesmiddelen (NSAID), zoals piroxicam, worden vaak gebruikt voor de behandeling van patiënten met pijnlijke OA gewrichten. Vele NSAID hebben echter niet alleen ernstige algemeen lichamelijke bijwerkingen, maar remmen ook het kraakbeen metabolisme van deze patiënten. Oorspronkelijk zijn de NSAID ook bedoeld als ontstekingsremmend middel ter bestrijding van de synovitis bij bv. RA. Synovitis speelt bij arthrose echter geen oorzakelijke rol en komt voornamelijk voor na een trauma van het gewricht. Daarom werd in deze studie het effect van piroxicam op het kraakbeen metabolisme van menselijke kraakbeeencellen *in vitro* bestudeerd. De resultaten van deze studie laten zien dat piroxicam het metabolisme van gezonde en OA chondrocyten *in vitro* remt. Het lijkt daarom verstandig de behandeling met NSAID van patiënten met OA te beperken tot de periode waarin er sprake is van een duidelijke synovitis.